



Profil Kromatogram dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar Roxb*) Terhadap Bakteri *Escherichia coli* In Vitro

Lanjar Raharjo *, Gunardi **

ABSTRACT

Chromatogram profile and antibacterial activity of ethanol extract from bangle rhizome (Zingiber cassumunar Roxb.) to Escherichia coli in vitro

Background: Bengle (*Zingiber cassumunar roxb.*) was a plant which had been used by society since long time ago as a traditional medicine. It was predicted that there were anti-bacteria substances in bangle, so it might substitutes the utilization of conventional antibiotics. The aims of this research was to explore the chromatogram and antibacterial activity etanol extract of Bengle Rhizome against *Escherichia coli*.

Methods: The method of these research were descriptive and experimental study using the post test only control group design. Ethanol extract of Bengle rhizome was made by maceration method with ethanol as solvent. Chromatogram profile was using thin layer chromatography and antibacterial activity against *escherichia coli* was done using dilution method and than cultured in Mac Conkey agar media.

Results: The results showed that, thin layer chromatography shown 4 spot under UV light 254 nm wave leng with colour, blue violet, blue violet, brown yellow, brown yellow and Rf value 0.21; 0.34; 0.45; 0.55. No bacterial growth at etanol extract of Bengle rhizome 12.5% on Mueller Hinton Broth media, nor at concentration of 25% on Mac Conkey media.

Conclusions: The were 4 compounds predictly included of flavonoid, steroid, volatile oil and terpenoid group. Etanol extract of Bengle rhizome had minimum consentration inhibitory 12.5% and minimum bactericide consentration 25% against *Escherichia coli*.

Keywords: Ethanol extract of Bengle rhizome, *Escherichia coli*, anti-bacteria activity in vitro

ABSTRAK

Latar belakang: Bengle (*Zingiber cassumunar Roxb.*) adalah tanaman yang sudah lama digunakan di masyarakat sebagai obat tradisional. Dalam tanaman ini diduga terdapat zat anti bakteri sehingga dimungkinkan untuk digunakan sebagai pengganti antibiotika konvensional. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui profil kromatogram ekstrak rimpang etanol rimpang Bengle dan aktivitasnya terhadap *Escherichia coli*.

Metode: Metode penelitian yang dilakukan adalah penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan post test only control group design. Ekstraksi rimpang Bengle dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Untuk mengetahui profil kromatogram dilakukan pemisahan secara kromatografi lapis tipis dan aktivitas terhadap *Escherichia coli* dilakukan dengan metode pengenceran yang dilanjutkan dengan metode penanaman pada media Mac Conkey.

Hasil: Profil kromatogram di bawah UV 254 nm didapatkan 4 bercak berwarna ungu biru, ungu biru, kuning coklat, kuning coklat dengan Rf 0,21; 0,34; 0,45; dan 0,55. Dalam media cair Mueller Hinton Broth pertumbuhan bakteri tidak terlihat pada kadar ekstrak rimpang Bengle 12,5% dan dalam media Mc Conkey pada kadar 25%.

Simpulan: Terdapat 4 komponen senyawa dalam ekstrak rimpang bengle yang dapat teramati, diperkirakan golongan flavonoid, steroid, minyak atsiri dan terpenoid. Ekstrak rimpang Bengle mempunyai aktivitas terhadap *Escherichia coli* dengan kadar hambat minimum 12,5% dan kadar bunuh minimum 25%.

* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

** Staf Pengajar Bagian Kimia Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang, Jl. Dr. Sutomo No. 18 Semarang

PENDAHULUAN

Salah satu upaya pemerintah dalam mewujudkan peningkatan derajat kesehatan adalah penyediaan obat yang bermutu murah terjangkau oleh masyarakat. Dalam hal penyediaan obat, keinginan kembali ke alam sudah mulai gencar dilakukan sejak dekade ini. Beberapa yang menjadi pertimbangan adalah: 1. Kebutuhan obat yang terus meningkat dengan diikuti kenaikan harga obat yang sulit dikendalikan. 2. Sumber kekayaan alam obat asli Indonesia yang melimpah. 3. Jarang ditemukan efek samping pemakaian obat asli Indonesia.¹

Pemerintah dalam mewujudkan hal tersebut di atas, telah melakukan perlindungan terhadap usaha pemakaian obat asli Indonesia dengan melakukan penelitian, pembuatan, penggunaan khasiat, standarisasi pemakaian serta mencari sumber baru obat asli Indonesia dengan melakukan penelitian secara intensif, terpadu multi disiplin.²

Zingiber cassumunar Roxb. merupakan tanaman yang berasal dari Asia tropika. Tanaman ini banyak ditemukan di India, Asia tenggara, dan Indocina. Di Indonesia, tanaman ini tersebar banyak terdapat di daerah Sumatra, Jawa, Kalimantan, Maluku, dan Nusa Tenggara.^{3,4}

Taksonomi Bengle termasuk divisio *Spermatophyta*, kelas *Angiospermae*, ordo *Monocotyledonae*, familia *Zingiberaceae*, spesies *Zingiber cassumunar, Roxb.* Secara umum tanaman yang termasuk dalam familia *Zingiberaceae* mengandung senyawa-senyawa golongan *terpenoid, fenolik, curcuminoid, dan flavonoid*,⁵ sehingga dari tinjauan kemotaksonomi rimpang Bengle diperkirakan mengandung senyawa-senyawa tersebut. Bagian tanaman yang banyak digunakan adalah rimpangnya. Rimpang Bengle secara imperis digunakan sebagai obat perut mulas, karminatif, diare, sakit kuning, rematik, asma.^{3,4} Di samping itu disebutkan juga berkhasiat sebagai antioksidan, obat radang, obat cacing, anti bakteri, laksansia serta sebagai pelangsing tubuh.^{5,6,7}

Menurut Fachriyah Enny, dkk ekstrak metanol rimpang Bengle pada kadar 12,5 mg/20 gram babot badan mencit dapat menekan rasa nyeri yang diinduksi 5% larutan asam asetat secara intra peritoneal.⁸ Salah satu hasil pemisahan secara kromatografi kolom dan kromatografi lapis tipis ekstrak metanol rimpang Bengle dengan analisis IR dan GC-MS ditemukan senyawa 3(3,4-dimetoksifenil)-4(3,4-dimetoksisteril) sikloheksena.⁹

Penelitian yang telah dilakukan terdahulu kebanyakan ekstraksi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol. Metanol merupakan pelarut yang mempunyai toksisitas terhadap mamalia. Untuk keamanan pemakaian, perlu dilakukan penelitian ekstraksi rimpang Bengle menggunakan pelarut etanol 70% dengan tujuan keamanan terhadap mamalia pemakainya terutama pada manusia.

Escherichia coli adalah kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. Sifatnya unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus dan juga bisa menimbulkan infeksi lain di luar usus.^{3,4,5} Kuman berbentuk batang pendek (kokobasil), dengan pengecatan gram memberikan hasil gram negatif. Ukuran *Escherichia coli* ini 0,4-0,7 µm x 1,4 µm. *Escherichia coli* tumbuh baik pada hampir semua media yang biasa dipakai di laboratorium Mikrobiologi. Sebagian besar strain dari *Escherichia coli* ini tumbuh sebagai koloni yang meragi laktosa (*lactose fermenter*).^{6,12,14} Penelitian ini bertujuan mengetahui profil kromatografi ekstrak etanol rimpang Bengle sebagai penelitian pendahuluan untuk mencari senyawa penuntun yang mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian deskriptif dan penelitian eksperimental dengan rancangan *post test only control group design*. Penelitian deskriptif berupa profil kromatogram dari ekstrak etanol rimpang Bengle, dilanjutkan penelitian eksperimental aktivitas ekstrak rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar, Roxb*) terhadap bakteri *Escherichia coli*. Bahan yang digunakan rimpang Bengle yang diperoleh dari Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Ekstraksi dilakukan dengan metoda maserasi. Rimpang Bengle dicuci bersih, diiris tipis-tipis, lalu dikeringkan. Penelitian pendahuluan dengan berbagai kadar etanol dilakukan untuk memperoleh kadar terbaik. Irisan rimpang direndam dengan etanol 70% selama 24 jam sambil digodog kemudian disaring, proses ini diulang hingga 3 kali. Filtrat yang diperoleh dicuci menggunakan n-heksan, diulang 3 kali. Filtrat yang telah dicuci kemudian diuapkan menggunakan *water bath* dengan suhu 70°C hingga didapatkan ekstrak yang kental. Untuk mengetahui jumlah komponen senyawa yang ada dalam ekstrak dilakukan pemisahan secara kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF dan fase gerak etil asetat. Setelah elusi tercapai, kromatogram diambil dan dianginkan sampai kering. Jumlah bercak kemudian dideteksi dengan sinar *UV Spectroline* 50 Hz; 0,17 amps, dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Bercak yang nampak dihitung jumlahnya sebagai gambaran banyaknya komponen yang terdapat dalam ekstrak rimpang Bengle. Harga R_f-nya dihitung sebagai acuan atau redensi dalam membantu mengidentifikasi.

Penelitian eksperimental bertujuan mencari Kadar Hamat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol rimpang Bengle terhadap *Escherichia coli*. Sampel bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 didapatkan dari hasil kultur pada media

McConkey dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang. Tiap percobaan terdiri dari 9 tabung. Tabung pertama diisi 2 ml larutan ekstrak dengan konsentrasi 100%. Larutan 100% adalah 1000 mg ekstrak Bengle dalam 1 ml media Mueller Hinton Broth. Satu ml isi tabung pertama diambil lalu diencerkan dengan 1 ml media Mueller Hinton broth di tabung kedua hingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 50%, tabung kedua kemudian diencerkan dan seterusnya hingga konsentrasi mencapai 3,125% pada tabung ke enam. Tabung ke tujuh berisi media yang ditanami kuman sebagai kontrol positif. Tabung ke delapan berisi media Mueller Hinton Broth, formalin pekat dan ditanami kuman sebagai kontrol kuman mati. Tabung sembilan diisi media Mueller Hinton Broth dan ekstrak sebagai kontrol sterilitas kerja. Percobaan dilakukan sebanyak tujuh seri. Tabung-tabung diinkubasi pada suhu 37°C dan ditentukan KHM setelah 24 jam. Kemudian isi tabung digoreskan di media McConkey padat, diinkubasi kembali pada suhu 37°C, dilihat koloni pertumbuhan kuman untuk menentukan KBM pada hari berikutnya.

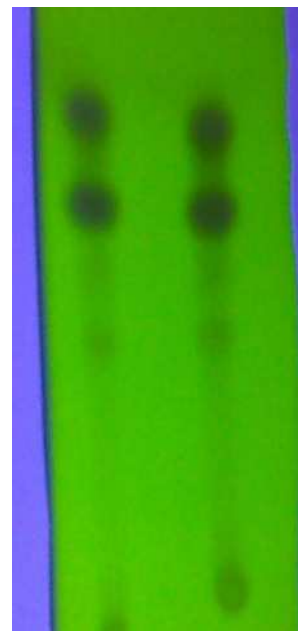
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan ekstrak rimpang Bengle dilakukan dengan maserasi dengan pertimbangan tanpa pemanasan, sehingga dapat dicegah terjadinya penguapan dari komponen senyawa yang mudah menguap misal minyak atsiri, seperti pada kebanyakan tanaman golongan familia *Zingiberaceae*. Digunakan pelarut yang tidak toksik terhadap mamalia sehingga aman terhadap manusia penggunaannya. Dalam penelitian ini digunakan pelarut etanol 70% dengan harapan di samping tidak toksik dibandingkan dengan metanol yang telah dilakukan penelitian pendahuluan, komponen senyawanya dapat tersari sempurna, serta ekstrak yang diperoleh dapat larut dalam pembawa sediaannya terutama air. Hasil ekstraksi rimpang Bengle diperoleh ekstrak kental, warna kuning kecoklatan, bau tajam seperti minyak atsiri.

Profil Kromatogram

Profil kromatogram dimaksudkan untuk mengetahui komponen senyawa yang ada dalam ekstrak rimpang Bengle yang diperoleh, digunakan sebagai penelitian pendahuluan yang digunakan untuk mencari senyawa penuntum yang mempunyai aktivitas anti bakteri terutama *Escherichia coli*. Profil kromatogram dilakukan dengan cara pemisahan ekstrak rimpang Bengle dengan metode kromatografi lapis tipis. Digunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etil asetat dan penampak sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Serta disemprot dengan larutan FeCl_3 . Hasil pemeriksaan profil kromatogram ekstrak etanol rimpang

Bengle dapat disajikan seperti pada Gambar 1 dan 2 serta Tabel 1 sebagai berikut:



Gambar 1. Profil kromatogram ekstrak etanol rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar*, Roxb.) dengan penampak sinar uv 254 nm. Digunakan fase diam silika gel GF 254, fase gerak etil asetat.



Gambar 2. Profil kromatogram ekstrak etanol rimpang Bengle (*Zingiber cassumunar*, Roxb.) dengan penampak sinar uv 365 nm. Digunakan fase diam silika gel GF 254, fase gerak etil.

Tabel 1. Profil kromatogram ekstrak etanol rimpang Bengle

Bercak	Warna		Rf
	UV 254	UV 365	
1	Ungu biru	ungu	0,21
2	Ungu biru	-	0,34
3	Kuning coklat	-	0,45
4	Kuning coklat	-	0,55

Keterangan: Fase diam: silika gel GF
Fase gerak: etil asetat

Hasil kromatogram didapatkan 4 bercak yang terlihat memisah secara sempurna dengan warna kuat yaitu ungu biru, ungu biru, kuning coklat dan kuning coklat dan diikuti beberapa bercak yang berimpit dalam jumlah yang sangat kecil, jika dilihat pada panjang gelombang 254 nm. Jika dilihat dengan panjang gelombang 365 nm menunjukkan bercak dengan harga Rf yang sama pada salah satu bercak yang nampak pada panjang gelombang 254 nm. Hal ini menunjukkan bahwa pemakaian etil asetat sebagai fase gerak cukup baik untuk dapat memisahkan kandungan senyawa yang dominan dalam ekstrak Bengle. Masih perlu dicari fase gerak lain untuk memisahkan senyawa lainnya yang relatif kecil jumlahnya. Selain itu juga diperlukan suatu penampak lain yang dapat mendeteksi senyawa yang terdapat di dalam rimpang Bengle. Hal itu dikarenakan hanya nampak fluoresensi pada profil kromatogram ekstrak etanol rimpang Bengle. Diharapkan dengan adanya penampak yang lebih sempurna, maka akan dapat diamati dengan

jelas perbedaan warna yang merupakan karakteristik dari masing-masing komponen senyawa, sehingga jenis senyawa yang terdapat dalam rimpang Bengle dapat dideteksi melalui profil kromatogram ini.

Adanya bercak nampak pada panjang gelombang 254 nm menunjukkan adanya senyawa yang mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi diantaranya flavonoid, steroid, terpenoid dan lain sebagainya. Menurut pustaka suatu senyawa di bawah sinar UV panjang gelombang 254 nm, golongan keton dan alkohol, termasuk fenol memberikan warna biru, steroid dan terpenoid memberikan warna coklat dan minyak atsiri berwarna biru. Dari hasil tersebut diperkirakan senyawa yang terdapat dalam ekstrak rimpang Bengle tersebut diantaranya golongan flavonoid, steroid minyak atsiri dan terpenoid. Hal ini diperkuat setelah lempeng kromatogram disemprot dengan larutan FeCl_3 memberikan warna ungu sampai biru.

Aktivitas Anti Bakteri

Aktivitas anti bakteri ekstrak rimpang Bengle terhadap *Escherichia coli* dilakukan untuk mengetahui kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM). Dilakukan dengan metode pengenceran, digunakan media Mueller Hinton Broth kemudian dilanjutkan dengan metode penanaman pada media padat Mc Conkey. Hasil pemeriksaan aktivitas ekstrak rimpang bengle terhadap *Escherechia coli* dapat disajikan pada Tabel 2 dan 3.

Tabel 2. Hasil uji KHM ekstrak rimpang Bengle terhadap *Escherichia coli*

Nomor Tabung	Konsentrasi Ekstrak Bengle						Kontrol		
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,125%	K+	K-	Ks
1	-	-	-	-	+	+	+	-	-
2	-	-	-	-	+	+	+	-	-
3	-	-	-	-	+	+	+	-	-
4	-	-	-	-	-	+	+	-	-
5	-	-	-	-	+	+	+	-	-
6	-	-	-	-	-	-	+	-	-
7	-	-	-	-	+	+	+	-	-

Keterangan :

K + = Kontrol + berisi media Mueller Hinton Broth yang ditanami kuman

K - = Kontrol – berisi media Mueller Hinton Broth yang ditambah formalin dan ditanami kuman

K S = Kontrol steril berisi media Mueller Hinton Broth ditambah ekstrak Bengle

- = Jernih tidak terdapat pertumbuhan kuman

+

Tabel 3. Hasil uji KBM ekstrak rimpang Bengle terhadap *Escherichia coli*

Nomor tabung	Konsentrasi Ekstrak Bengle						Kontrol		
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,125%	K+	K-	Ks
1	-	-	-	+	+	+	+	-	-
2	-	-	-	+	+	+	+	-	-
3	-	-	+	+	+	+	+	-	-
4	-	-	-	-	+	+	+	-	-
5	-	-	-	+	+	+	+	-	-
6	-	-	-	-	+	+	+	-	-
7	-	-	-	-	+	+	+	-	-

Keterangan:

K + = Kontrol + berisi media Mueller Hinton Broth yang ditanami kuman

K - = Kontrol - berisi media Mueller Hinton Broth yang ditambah formalin dan ditanami kuman

K S = Kontrol steril berisi media Mueller Hinton Broth ditambah ekstrak Bengle

- = Jernih tidak terdapat pertumbuhan kuman

+

Dari Tabel 2 dapat diketahui bahwa mulai kadar ekstrak 12,5% ke atas dalam media Mueller Hinton Broth dalam semua tabung tidak terlihat adanya pertumbuhan (semua isi tabung jernih), kemudian diambil sampel pada tabung yang mempunyai kadar ekstrak rimpang Bengle 12,5% dan 25% kemudian ditanam dengan cara digoreskan pada media padat Mc Conkey kemudian dieramkan. Setelah masa pengamatan selesai diamati. Hasil pengamatan menunjukkan bahwa pada media padat McConkey, rata-rata tidak didapatkan pertumbuhan kuman pada konsentrasi 25% ke atas, namun pada konsentrasi 12,5% masih terdapat pertumbuhan kuman. Secara statistik KHM dan KBM ditentukan pada konsentrasi terkecil dimana tidak terdapat perbedaan bermakna dibandingkan dengan kontrol negatif dan terdapat perbedaan bermakna bila dibandingkan dengan kontrol positif. Dari hasil pengamatan dan uji statistik tersebut, ditemukan bahwa nilai KHM ekstrak rimpang Bengle terhadap *Escherichia coli* adalah 12,5% dan nilai KBM nya adalah 15%.

SIMPULAN

Hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa terdapat empat komponen senyawa dalam ekstrak etanol rimpang Bengle yang dapat diamati dengan jelas pada profil kromatogram. Komponen senyawa yang dapat diamati, terpisah secara sempurna diperkirakan golongan flavonoid, tanin, terpen dan minyak atsiri. Ekstrak etanol rimpang Bengle mempunyai aktivitas anti bakteri terhadap *Escherichia coli* dengan KHM sebesar 12,5% serta KBM sebesar 25%.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemilihan dan optimasi fase gerak untuk dapat memisahkan kandungan senyawa ekstrak etanol rimpang Bengle lebih sempurna. Pemisahan komponen senyawa kimia dalam rimpang Bengle dengan metode kromatografi lapis tipis dua dimensi. Mencari senyawa yang paling aktif dalam ekstrak Bengle yang dapat menghambat bakteri. Uji toksisitas ekstrak etanol rimpang Bengle, elusidasi struktur senyawa kimia hasil pemisahan secara kromatografi, memodifikasi senyawa aktif dalam ekstrak rimpang Bengle untuk mendapatkan bentuk yang lebih poten dan tidak toksik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Ketua Bagian dan Staf Laboratorium Kimia Kedokteran dan Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

DAFTAR PUSTAKA

1. Pramono Suwijiyo. Posisi dan kontribusi kimia dalam pencarian sumber bahan baku obat dari bahan baku alam. Makalah seminar obat tradisional anti rematik. Semarang; 1997.
2. Anon. Kumpulan peraturan perundang-undangan farmasi. Jakarta: Korpri Sub Unit Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, 1997; hlm.5,197.
3. Sastroamidjojo, Seno. Obat asli Indonesia. Jakarta: Dian Rakyat, 2001; hlm.47-48.
4. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Tanaman obat Indonesia. Jilid II. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1985; hlm.106.

5. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Tanaman obat Indonesia Jilid I. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, 1985; hlm.106.
6. PDII-LIPI. Bengle (*zingiber cassumunar*). c 2006 [cited 2006 Dec 25]. Available from: <http://www.pdii-lipi.com/bengle.html>.
7. Department of Medical Science. Thai herbal pharmacopoeia. Vol 1. Bangkok: Pracachon Co, 1998; p.51-56.
8. Darusman Latifah K, Rohaeti Eti, Sulistiyani, Murni Anggia. Ekstraksi dan fraksinasi senyawa aktivator lipase dari rimpang bangle (*zingiber cassumunar*). 2001.
9. Nugroho B W, Schwarz B, Wray V, Proksch P. Insecticidal constituents from rhizomes of *Zingiber cassumunar* and *Kaempferia rotunda*. *Phytochemistry*. 1996; 41(1): p.129-132.
10. Fachriyah Enny, Gunardi, Kurnianingsih Mei, Masjhoer Muhammad. Daya analgetik ekstrak rimpang bengle (*zingiber cassumunar, roxb*) pada mencit yang diinduksi nyeri cara kimia. Seminar UNNES–UNDIP, Semarang, 2002.
11. Fachriyah Enny, Kurniawan Aris, Meiny, Gunardi. Senyawa kimia fraksi metanol rimpang bengle (*zingiber cassumunar, roxb*. Semarang: M Med Indones. 2007;42(1):hlm 21-25.
12. Ozaki Y, Kawahara N, Harada M. Anti-inflammatory effect of *zingiber cassumunar roxb.* and its active principles. *Chem Pharm Bull*. 1991; 39(9): 2353-2356.
13. Nuratmi Budi. Uji khasiat seduhan rimpang bengle (*zingiber purpureum Romb.*) sebagai laksansian pada tikus. *Media Penelitian dan Pengembangan Kesehatan*. 2005; 15(3):8-11.
14. Gainey, Lord. *Microbiology of water and sewage*. New Jersey: Prentice Hall Inc, 1961; p.183-185.
15. Pelczar M J, Chan E C S. *Dasar-dasar mikrobiologi*. Jakarta: UI Press, 1980; hlm.873.
16. Prescott L M, Harley J P, Klein D A. *Microbiology*. Dubuque: WMC Brown Publisher. 1989; p.436.

Sinopsis:

Terdapat 4 komponen senyawa kimia yang dapat diamati pada kromatogram ekstrak etanol rimpang bengle (*Zingiber cassumunar Roxb*) secara kromatografi lapis tipis dan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan KHM 12,5 % dan KBM 25% .